



بررسی اثرات داروی Ciprofloxacin بر میزان اسپرماتوژنز در رت

آرش خاکی^{۱*}، ایرج سهرابی حق دوست^۱، معرفت غفاری نوین^۲، یدا..آذر می^۳، مهناز حیدری^۲

^۱ گروه پاتولوژی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

^۲ پژوهشکده ابن سینا، دانشگاه شهید بهشتی تهران

^۳ بخش فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

(دریافت مقاله: ۸۴/۱/۱۷ - پذیرش مقاله: ۸۴/۳/۳)

چکیده

زمینه: آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون بر روی بیماری‌های حاصل از باکتری‌های گرم منفی بسیار مؤثر عمل می‌کنند در حال حاضر اکثر کشورهای دنیا از این دارو استفاده می‌کنند. هدف از انجام تحقیق فوق، پی بردن به اثرات داروی ciprofloxacin در طول دوره اسپرماتوژنز در Rat بوده است.

مواد و روش‌ها: ۲۰ عدد رت نر نژاد ویستار، به دو گروه (n=۱۰) کنترل و (n=۱۰) تحت مطالعه تقسیم شدند. هر دو گروه تحت مطالعه، و کنترل در شرایط یکسان از لحاظ مکان و محل زندگی و نوع ماده غذایی و آب آشامیدنی نگهداری می‌شدند و فقط گروه تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل از دوز درمانی داروی ciprofloxacin به میزان ۱۲/۵ میلی گرم بر کیلوگرم در طول ۶۰ روز (طول دوره اسپرماتوژنز) به صورت محلول در آب آشامیدنی استفاده کردند. در پایان روزهای تیمار (روزهای چهل و هشتم و شصتم) از جهت سنجش میزان تستسترون از ناحیه دمی ۵ سی سی از هر سر موش صحرایی خون‌گیری به عمل آمد. جهت ارزیابی مراحل مختلف اسپرماتوژنز از بافت بیضه در روز شصتم نمونه برداری شد و توسط فرمالین ۱۰ درصد بافر نمونه‌ها تثبیت گشتند.

یافته‌ها: طبق مشاهدات در زیر میکروسکوپ نوری و آنالیز انجام شده آماری، درصد لوله‌های سیمینفر در گروه کنترل به میزان معنی‌داری ($P < 0/05$) سالم و نرمال بودند و به عبارتی در مرحله دهم (SC ۱۰) قرار داشتند. از سوی دیگر درصد لوله‌های منی ساز موجود در گروه تحت مطالعه حضور سلول‌های سرتولی، توقف بلوغ سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه، اختلال در تفکیک و تمایز اسپرماتیدها هیپو اسپرماتوژنز را نشان می‌داد که این یعنی لوله‌های سیمینفر از لحاظ تکاملی در مراحل Sc ۲، Sc ۵-۴ و Sc ۹-۶ واقع بودند. میزان هورمون تستسترون در گروه تحت مطالعه در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافته بود ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج حاصله در گروه تحت مطالعه و مقایسه آن با گروه کنترل نشان داد که میزان تستسترون کاهش یافته بود و تحت آنالیز آماری این یافته‌ها به میزان ($p < 0/05$) معنی‌دار بود. از آنجا که طبق تحقیق ما داروی ciprofloxacin با تخریب لوله‌های سیمینفر و تأثیر آن بر تکامل مراحل مختلف ده‌گانه اسپرماتوژنز دارای اثرات منفی بر روی بلوغ اسپرماتوسیت‌ها بوده و سبب کاهش هورمون تستسترون در روز شصتم نسبت به روز چهل و هشتم بود، لذا احتمال می‌رود که مصرف طولانی مدت این دارو سبب کاهش میزان تستسترون و آسیب سلول‌های قاعده‌ای گردد و تکامل مراحل اسپرماتوژنز تحت تأثیر قرار می‌دهد.

واژگان کلیدی: سیپرو فلوکساسین، تکامل لوله‌های سیمینفر، تستسترون، اسپرماتوژنز

* تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، گروه پاتولوژی دامپزشکی، تهران،

مقدمه

امروزه با توجه به گسترش بیماری‌های عفونی، حدود یک سوم از مردم کره زمین از بیماری‌های عفونی رنج می‌برند که توسط ویروس، باکتری، قارچ، تک یاخته‌ها یا انگل‌ها به وجود می‌آیند و این بیماران از داروهای شیمیایی از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها جهت درمان بیماری خود استفاده می‌کنند. بیماری‌هایی مانند بیماری‌های مقاربتی، عفونی ناحیه تناسلی، سل، وبا، ابولا و بروسلوز جهت درمان، نیاز به مصرف دراز مدت از آنتی‌بیوتیک دارند (۱-۴).

بیماری‌های عفونی دستگاه ادراری به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل تهدید کننده زندگی افراد بالغ به شمار می‌رود مهم‌ترین عوامل پاتوژن در این دستگاه *Escherichia coli*، *staphylococcus saprophyticus* می‌باشند (۵). از بیماری‌های که سبب ایجاد نارسایی در دستگاه ادراری می‌شوند می‌توان به *Pyelonephritis*، *Leptospirosis*، *cystitis*، *Gonorrhea* و *NGU* (Non gonococcal urethritis) بیماری‌های التهابی ناحیه لگن، بیماری *Syphilis*، *venereum* *Lymphogramuloma* *Chancroid* (soft chancre) و بیماری *Bacterial vaginosis* اشاره کرد (۵ و ۶). خانواده‌های مختلف آنتی‌بیوتیک‌ها در مداوای بیماری‌های مختلف کاربرد دارند که در خانواده فلوروکینولون‌ها مثل سیپرو فلو - کساسین و افلوکساسین قرار دارند این دارو با مکانیسم جلوگیری از عملکرد توپوایزومراز شده و از تکثیر باکتری‌ها ممانعت می‌ورزد. این دارو همچنین در درمان عفونت‌های داخل سلولی مثل: *Mycobacterium aureus*، *Staphylococcus*، *Listeria monocytogenes* و *Tuberculosis* مؤثر

است (۷-۱۱). همچنین آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون اثرات خوبی را در درمان عفونت‌های حاصله از باکتری‌های گرم منفی در دستگاه ادراری تناسلی، از خود نشان داده‌اند (۱۶-۱۲). از سوی دیگر این دارو بر روی عفونت‌های حاصله توسط مایکوپلازماها، کلامیدیاها، استرپتوکوک‌ها نیز بسیار مؤثر است. این دارو سبب ناهنجاری‌هایی در سیستم عضلانی - حرکتی در کودکان، تورم مفصل، و ناهنجاری در راه رفتن می‌شود (۱۷ و ۱۸). در حدود یک چهارم جمعیت زنان و نیم درصد جمعیت مردان در طول زندگی خود به یکی از بیماری‌های دستگاه تناسلی، ادراری مبتلا می‌شوند (۲۲-۱۹). با توجه به اینکه مبتلایان به بیماری‌های عفونی جهت درمان خود از آنتی‌بیوتیک‌ها استفاده می‌کنند که گاهی تا حدود دو ماه به صورت مداوم روز این تجویز دارو ادامه دارد (۳-۱) و این مدت زمان تجویز در بیماری‌های مزمن با طول دوره اسپرماتوژنز در انسان (۲۳) و در موش صحرایی در حدود پنجاه روز می‌باشد (۲۶-۲۴) مطابقت می‌کند. بنابراین در تحقیق حاضر ما به اثرات احتمالی این دارو از خانواده فلوروکینولون‌ها بر روی میزان تغییرات هورمون تستسترون در پایان روزهای چهل و هشتم و شصتم و تغییرات تکاملی مراحل مختلف ده‌گانه اسپرماتوژنیز در لوله‌های منی‌ساز در موش‌های صحرایی پرداخته‌ایم.

مواد و روش‌ها

جهت این مطالعه ۳۰ سر موش صحرایی نر، نژاد ویستار که از مرکز انیستیتو رازی ایران خریداری شده بود، استفاده شد. موش‌ها در حدود ۹ هفته سن داشتند و وزنشان در حدود $220 \pm 5g$ بود. حیوانات در طول زمان تحقیق، به مدت ۱۲ ساعت در روشنایی و ۱۲ ساعت در

تاریکی قرار گرفتند (۸ صبح تا ۸ شب) دمای اطاق نگهداری ۲۴ درجه سانتی‌گراد بود و درصد رطوبت اطاق ۵۵ درصد ثابت تنظیم می‌شد. تمامی حیوانات حاضر در تحقیق فوق بر طبق قانون حمایت از حیوانات کشته شدند. ۲۰ سر از این حیوانات به صورت تصادفی به دو گروه کنترل و دریافت کننده دارو تقسیم گشتند که در هر گروه ۱۰ سر موش قرار گرفتند. دوز تجویزی داروی Ciprofloxacin (آریا - ایران) به میزان ۱۲/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود (۲۷ و ۲۸)، که طور محلول در آب آشامیدنی به صورت روزانه به مدت دو ماه پیاپی استفاده می‌گردید (۱۹، ۲۹ و ۳۰).

روش جراحی جهت برداشت نمونه

در پایان روزهای تیمار (چهل و هشتم و شصتم) جهت سنجش میزان تغییرات تستسترون خونگیری از ناحیه دمی انجام شد و در پایان روز شصتم جهت بررسی تغییرات اسپرماتوزنیز با استفاده از پتوباربیئتورال (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) جهت بیهوشی از طریق تزریق داخل صفاقی استفاده شد و سپس ناحیه صفاقی از ناحیه شکاف عرضی شکمی باز شد. سپس بیضه‌ها در هر دو گروه کنترل و تحت مطالعه از بدن خارج شدند. در انتهای این تحقیق حیوانات و در طول مدت ۲ ساعت (۹-۱۱ صبح) توسط گاز CO₂ کشته شدند.

بررسی تغییرات هورمون تستسترون

جهت سنجش سطح هورمون تستسترون از کیت مخصوص ساخت کارخانه بیوسورس بلژیک استفاده شد و با روش رادیو الایزا این تغییرات بررسی گردید.

مطالعه لوله‌های سیمینفراز لحاظ مراحل مختلف

تکامل لوله‌های سیمینفر

پس از استفاده از فرمالین بافر ۱۰ درصد جهت فیکس کردن بافت بیضه، به تهیه بلوک‌های پارافینه جهت تهیه

مقاطع میکروسکوپی به اندازه ۵-۴ میکرومتر پرداخته شد. جهت مطالعه مراحل تکامل لوله‌های سیمینفر از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین انوزین (H&E) و از میکروسکوپ نوری مدل (Olympus/3H-Z) ساخت کشور ژاپن استفاده شد. بدین‌منظور تعداد ۱۰۰ عدد سیمینفر به صورت تصادفی در گروه کنترل و ۱۰۰ عدد لوله سیمینفر به صورت تصادفی در گروه تحت مطالعه انتخاب گردید. (۱۰ لوله سیمینفر به ازای هر سرموش صحرایی) و در مراحل ۱۰ گانه تکامل مختلف لوله‌های سیمینفر از لحاظ آتروفی، سندرم سلول‌های سرتولی، هیپواسپرماتوزنیز و دژنره شدن لوله‌های سیمینفر و توقف بلوغ اسپرماتوسیت‌های اولیه در هر دو گروه کنترل و آزمایش مورد مطالعه قرار گرفتند (۳۱ و ۳۲) معیار ارزشیابی جدول ۲ بود که قرارگیری مراحل مختلف لوله‌های سیمینفر را در هر ۱۰ مرحله به صورت جداگانه نشان می‌دهد.

آنالیز آماری

جهت بررسی و مقایسه نتایج حاصله در گروه کنترل و تست به ازای هر گروه ۱۰۰ مقطع هیستوپاتولوژیک بررسی گردید و به ازای هر گروه ۱۰۰ لوله سیمینفر انتخاب و با روش F-test (Fisher test) آنالیز آماری انجام شد و P-values آن به میزان ($P < 0.05$) به طور آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد، جهت بررسی از نرم‌افزار آماری SPSS (USA، Il، Chicago، SPSS Inc) ویرایش ۱۳ استفاده گردید.

نتایج بررسی تغییرات هورمون تستسترون در

روزهای چهل و هشتم و شصتم

نتایج حاصله در گروه دریافت کننده دارو در پایان روزهای چهل و هشتم و شصتم کاهش سطح معنی‌دار

به میزان ($P < 0.05$) را نسبت به گروه کنترل نشان می داد (جدول ۱).

جدول ۱) نتایج آنالیز تغییرات هورمون تستسترون در گروه کنترل و آزمایش

نتایج	تستسترون روز ۴۸	تستسترون روز ۶۰
	(ng/ml)	(ng/ml)
گروه کنترل	3.05 ± 3.05	3.05 ± 0.05
گروه آزمایش	$1.05 \pm 0.05^*$	$2.05 \pm 0.05^*$

* اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل در $P < 0.05$ (داده ها بر حسب میانگین \pm انحراف معیار).

یافته ها

نتایج مطالعه تکامل مراحل مختلف لوله های سیمینفر

تکامل مراحل مختلف لوله های سیمینفر در هر دو گروه کنترل و مطالعه به صورت جداگانه مورد مطالعه قرار گرفتند. طبق مشاهدات در زیر میکروسکوپ نوری و آنالیز انجام شده آماری، بیشتر لوله های سیمینفر در گروه کنترل تمام سلول های موجود در مراحل مختلف اسپرماتوژنز اعم از اسپرماتوگونی، اسپرماتوسیت اولیه، اسپرماتوسیت ثانویه را به میزان ($8/4 \pm 2/01$) درصد لوله ها را نشان می دادند یعنی این لوله ها در مرحله دهم ($10Sc$) یا همان مرحله نرمال از لحاظ تکاملی قرار داشتند و تعداد لوله های موجود در مرحله دهم ($10Sc$) در گروه تحت مطالعه برابر با ($1/17 \pm 2/05$) درصد بودند از سوی دیگر لوله های سیمینفر موجود در گروه تحت مطالعه رده سلول های اسپرماتوگونی و اسپرماتوسیت های موجود را به میزان ($4/4 \pm 3/17$) از دست داده بودند و در بعضی مناطق فقط لایه قاعده ای لوله های سیمینفر باقی مانده بود یعنی این لوله ها در مرحله اول ($1Sc$) یا همان آتروفی لوله ها واقع بودند این در حالی بود که تعداد لوله های موجود در مرحله ($1Sc$) در گروه کنترل برابر با ($0/2 \pm 0/42$) درصد بودند. این مطالعه همچنین نشان

داد که درصد لوله های سیمینفر در مرحله دوم ($2Sc$) یا همان مرحله سلول های سرتولی واقع بودند که این برابر با ($4/2 \pm 3/82$) بود و لوله های موجود در مرحله چهارم - پنجم ($4-5Sc$) توقف بلوغ سلول های اسپرماتوسیت اولیه برابر با ($3/1 \pm 2/81$) در گروه دریافت کننده دارو بود، همچنین لوله های سیمینفر به میزان ($4/9 \pm 3/25$) درصد در گروه دریافت کننده دارو دچار هیپواسپرماتوژنز شده یا در مرحله ($8-9Sc$) قرار داشتند، تمامی این تغییرات نسبت به گروه کنترل به میزان ($P < 0.05$) معنی دار بودند (جدول ۲).

جدول ۲) آنالیز آماری لوله های سیمینفر در مراحل مختلف تکامل (score) اسپرماتوژنز در هر دو گروه کنترل و تحت مطالعه

مراحل تکاملی	کنترل	مورد مطالعه
1 Sc آتروفی لوله های منی ساز	$0/2 \pm 0/42$	$4/4 \pm 3/17^*$
2 Sc وجود سلول های سرتولی	$0/2 \pm 0/42$	$4/2 \pm 3/82^*$
3 Sc توقف پروسه اسپرماتوژنز	$0/1 \pm 0/32$	$0/3 \pm 0/48$
4 و 5 Sc توقف بلوغ سلول های اسپرماتوسیت اولیه	$0/5 \pm 0/85$	$3/1 \pm 2/81^*$
6 Sc ۷ اختلال در تفکیک و تمایز اسپرماتیدها	$0/2 \pm 0/422$	$1/9 \pm 2/8^*$
8 و 9 Sc هیپواسپرماتوژنز	$1 \pm 2/16$	$4/9 \pm 3/25^*$
10 Sc لوله های منی ساز نرمال	$8/4 \pm 2/01$	$1/17 \pm 2/05^*$

* اختلاف معنی داری نسبت به گروه کنترل در ($P < 0.05$) (داده ها بر حسب میانگین \pm انحراف معیار).

بحث

آنتی بیوتیک ها به خاطر نقش مهمی که در درمان بیماری های عفونی از خود به جای می گذارند، کمک ارزنده ای را به زندگی بشری کرده است با توجه به اینکه ممکن است که این دارو بر سیستم های مختلف بدن تاثیرگذار باشد در این تحقیق ما به اثرات این دارو بر روی سیستم دستگاه تناسلی مذکر مخصوصاً بر روی بافت بیضه ها اشاره می کنیم.

یافته‌های هستیولوژیکی جدید و الگوها و علل مختلفی را آشکار سازد، که یکی از علت‌های اصلی هیپواسپرماتوزن در بیماران فوق به دلیل توقف در رشد سلول‌های رده اسپرماتوگونی از طریق مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌باشد، از آنجا که مصرف داروها می‌تواند به آپوپتوزیس سلول‌ها کمک کند، لذا به اهمیت تحقیق ما افزوده است که می‌خواهیم با بررسی تأثیر این دارو بر مراحل مختلف تکامل اسپرماتوزن به کمک علوم هستیوپاتولوژی و آندرولوژی و تأثیر آن بر تغییرات هورمون تستسترون به نحوه تجویز علمی‌تر آن در کلینیک‌ها پرداخته شود (۸-۴) و با توجه به اینکه داروها همانند سایر ترکیبات شیمیایی از طریق فعال کردن آنزیم‌های مثل کاسپازها از عوامل ایجاد کننده مرگ برنامه‌ریزی شده سلول (۲۴ و ۳۰) می‌باشند و از طریق فعال کردن (کاسپاز ۳) سبب مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌شود (۴۰) و با این مکانیسم نقش مهمی در کاهش تعداد اسپرم، کاهش تحرک اسپرم، افزایش DNA قطعه‌قطعه شده در اسپرم، به وجود آمدن واریکوسل دارد، همچنین تستوسترون به وسیله‌ی سلول‌های میان بافتی لیدیگ (interstitial cells of Leydig) شرح می‌شود که در میان بافت لابلا‌ی لوله‌های منی‌ساز قرار دارند و حدود ۲۰ درصد از وزن بیضه‌های بالغین را تشکیل می‌دهند (۱۲ و ۴۱)، می‌توان نتیجه گرفت که این دارو در مقایسه با سایر آنتی‌بیوتیک‌ها که فقط بر روی یکی از پارامترهای سلامتی اسپرم اثر می‌گذاشتند این دارو می‌تواند از طریق افزایش میزان مرگ برنامه‌ریزی شده سلول سبب کاهش درصد بلوغ سلول‌های اسپرماتوگونی و سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه در مراحل چهارم- پنجم تکاملی ($P < 0.05$) و عدم تشکیل اسپرماتوسیت‌ها، بر روی تمامی پارامترهای

در مطالعات انجام شده در مورد اثرات آنتی‌بیوتیک‌های Oxytetracycline، Timicosin، streptomycin و isoniazid مشخص شده است که این داروها اثری را به روی تحرک اسپرم ندارند (۳۳ و ۳۴). ولی آنتی‌بیوتیک‌های Amoxycillin، erythromycin و co- trimoxazde همگی سبب کاهش درصد قابلیت زیست اسپرم‌ها می‌شوند (۳۵). در برخی از تحقیقات که در مورد درمان التهاب اپیدیدیم با آنتی‌بیوتیک Doxycycline انجام شده است نشان دهنده وقوع حالت oligoasthenospermia پس از تجویز ۸ روزه در ۷۵ درصد بیماران بوده است (۳۶). از سوی دیگر داروی Gentamicin سبب کاهش تعداد اسپرم‌ها می‌شود (۳۸ و ۳۷) همچنین تحقیقات گذشته مربوط به داروهای ofloxacin، Pefloxaen و Ciprfloxacin در روی رت که به مدت ۱۵ روز متوالی در دوزهای درمانی به صورت محلول در آب استفاده شده بودند نشان دهنده کاهش میزان LDH-X بیضه و کاهش اسید فسفاتاز اسپرم به همراه کاهش تعداد اسپرم کاهش تحرک اسپرم بود (۳۹). با توجه به اینکه داروی ciprofloxacin از آنتی‌بیوتیک‌های خانواده فلوروکینولون می‌باشد و به صورت وسیع‌الطیف در درمان بیماری‌های عفونی به کار می‌رود، لذا در تحقیق حاضر به بررسی اثرات این دارو بر روی فرایند اسپرماتوزن در بافت بیضه موش صحرایی پرداخته‌ایم که نتایج حاصله به طور معنی‌داری نشان دهنده‌ی کاهش معنی‌داری بر پارامترهای سلامتی لوله‌های سیمینفر از لحاظ مراحل ده‌گانه دارد. همچنین تحقیقات گذشته دانشمندان که در مورد بیوپسی‌های انجام گرفته از بافت بیضه به عمل آمده توانسته است، در میان بیماران مبتلا به هیپواسپرماتوزن

شایان ذکر است این یافته در تأیید قسمتی از روش تحقیقات سایر محققین می‌باشد (۴۲). با توجه به بررسی‌های انجام شده بر روی تغییرات هورمون تستسترون در روزهای چهل و هشتم و مقایسه آن با نتایج حاصله در روز شصتم که تغییرات هیپواسپرما توژنریس ایجاد شده بود و در ادامه مشاهده کاهش معنی‌دار سطح تستسترون خون و احتمال آسیب‌رسان بودن دارو در طی شصت روز پیشنهاد می‌گردد به میزان مصرف دارو در دوره‌های خاص درمانی دقت شود.

سپاس و قدردانی

بدین‌وسیله از زحمات بی‌شائبه مرکز بیولوژی و بیوتکنولوژی و فوق تخصصی سقط مکرر ابن‌سینای تهران در سال‌های ۱۳۸۴-۱۳۸۲ شمسی جهت حمایت‌های علمی انجام پایان‌نامه دوره دکترای تخصصی اینجانب سپاس به‌عمل می‌آید.

اسپرم مثل، کاهش تعداد اسپرم‌ها، کاهش قدرت تحرک اسپرم‌ها، و کاهش درصد قابلیت زیست اسپرم‌ها و کاهش وزن بافت بیضه و در انتها سبب آتروفی بیضه یا همان مرحله اول تکاملی ($P < 0.05$) بودند. پس از این تغییرات هیستوپاتولوژیک لوله‌های سیمینفر به دلیل بیگانه‌خواری بقایای آسیب بافتی حضور سلول‌های سرتولی و نمایان شدن لوله‌ها در مرحله دوم آسیب بافتی به قطعیت می‌رسد و این تغییرات سبب کاهش سطح هورمون تستسترون بشود. نکته جدید در این تحقیق که با توجه به بررسی مراحل تکامل لوله‌های سیمینفر به آن می‌شود توجه کرد هیچ‌گاه لوله‌های سیمینفر در هر دو گروه آزمایش و کنترل در مرحله سوم ۳Sc یا همان توقف کامل و توقف کامل پروسه اسپرماتوژنریس قرار نگرفته‌اند و این میزان در مقایسه گروه‌ها از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

References:

1. Andriole VT. Urinary tract infections in the 90s: pathogenesis and management. *Infection* 1992; 20: 251-6.
2. Norra C, Skobel E, Breuer C, et al. Ciprofloxacin-induced acute psychosis in a patient with multidrug-resistant tuberculosis. *Eur Psychiatry* 2003; 18: 262-3.
3. Frankenschmidt A, Naber KG, Bischoff W, et al. Once-daily fleroxacin versus twice-daily ciprofloxacin in the treatment of complicated UTIs. *J Urol* 1997; 158: 1494-9.
4. Giamarellos-Bourboulis EJ, Grecka P, Giamarellou H. Comparative in vitro activity of ciprofloxacin vs 8 antimicrobial agents against nosocomial multiresistant *P. aeruginosa* strains. *Drugs* 1995; 49: 203-4.
5. Harding G, Nicolle L, Wenman W. Randomised comparison of oral ciprofloxacin vs standard parenteral therapy in the treatment of complicated urinary tract infections. *J Drugs* 1995; 45: 333-4.
6. Mombelli G, Pezzoli R, Pinoja-Lutz G, et al. Oral vs intravenous ciprofloxacin in the initial empirical management of severe pyelonephritis or complicated urinary tract infections: a prospective randomized clinical trial. *Arch Intern Med* 1999; 159: 53-8.
7. Seral C, Carryn S, Tulkens PM, et al. Influence of P-glycoprotein and MRP efflux pump inhibitors on the intracellular activity of azithromycin and ciprofloxacin in macrophages infected by *Listeria monocytogenes* or *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2003; 51: 1167-73.
8. Fietta A, Merlini C, Gialdroni GG. Inhibition of intracellular growth of *Staphylococcus aureus* by exposure of infected human monocytes to clarithromycin and azithromycin. *J Chemother* 1997; 9: 17-22.
9. Firsov AA, Vostrov SN, Shevchenko AA. A new approach to in vitro comparisons of antibiotics in dynamic models: equivalent area under the curve/MIC breakpoints and equivalent doses of trovafloxacin and ciprofloxacin against bacteria of similar susceptibilities. *Antimicrob Agents Chemother*

- 1998; 42; 2841-7.
10. Gomolin IH, Siami PF, Reuning-Scherer J, et al. Efficacy and Safety of Ciprofloxacin Oral Suspension Versus Trimethoprim-Sulfamethoxazole Oral Suspension for Treatment of Older Women with Acute Urinary Tract Infection. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49: 1606-13.
11. Reece RJ, Maxwell A. Probing the limits of the DNA breakage-reunion domain of the Escherichia coli DNA gyrase A protein. *J Biol Chem* 1991; 266: 3540-6.
12. Naber KG, Landen H. Rapid resolution of symptoms with ciprofloxacin therapy in 3859 hospitalised patients with urinary tract infection. *Int J Antimicrob Agents* 2004; 23: 35-40.
13. Krcmery German S, Naber KG. Ciprofloxacin once versus twice daily in the treatment of complicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents* 1999; 11: 133-8.
14. Neu HC. Urinary tract infections. *Am J Med* 1992; 92: 63-70.
15. Orenstein R, Wong ES. Urinary tract infections in adults. *J Am Fam Physician* 1999; 59: 1225-34.
16. Gwan-Su S, Jeong-Ah Y, Jong-Moon K, et al. Base specific complex formation of norfloxacin with DNA. *Biophys Chem* 1983; 74: 225-36.
17. Mandell GL, Douglas RG, Bennet JE, editors. Principles and practice of Infectious diseases. 3rd Ed. New York: Churchill Livingstone; 1990: p. 203-5.
18. Neu HC. Optimal characteristics of agents to treat uncomplicated Urinary tract infections. *Infection* 1992; 20: 266-71.
19. Hooper DC, Wolfson J, Ng EY, et al. Mechanisms of action and resistance to ciprofloxacin. *Am J Med* 1987; 82: 12-20.
20. Tice AD. Short-course therapy of acute cystitis: a brief review of Therapeutic strategies. *J Antimicrob Chemother* 1999; 43: 85-93.
21. van der Does MC, van Duijn NP, Timmerman CP, et al. Resistance to antibiotics in uncomplicated urinary tract infections. *Huisarts Wet* 1998; 41: 421-3.
22. Warren JW, Abrutyn E, Hebel JR, et al. Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute Bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Clin Infect Dis* 1999; 29: 745-58.
23. Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals; seminiferous epithelium cycles and spermatogonial renewal. *Physiol Rev* 1972; 52: 198-236.
24. Gartner LP, Hiatt JL, editors. The color text book of Histology. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders compmany; 2006: p.592.
25. Bustos-Obregon E, Rodriguez H. Testicular x-ray irradiation in adult Mice as a model to study spermatogonial proliferation. *Andrologia* 1991; 23: 447-50.
26. Kerr JB, Maddocks S, Sharpe RM. Testosterone and FSH have independent, synergistic and stage-dependent effects upon spermatogenesis in the rat testis. *Cell Tissue Res* 1992; 268: 179-89.
27. Nieschlag E, Behre HM, editors. Andrology male reproductive health and dysfunction. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag company; 2000: p.114-20.
28. Raz R, Naber KG, Raizenberg C. Ciprofloxacin 250 mg twice daily versus ofloxacin 200 mg twice daily in the treatment of complicated urinary tract infections in women. *Eur J Microbiol Infect Dis* 2000; 19: 327-31.
29. Host E, Lindenberg S, Ernst E, et al. Sperm morphology and IVF: embryo quality in relation to sperm morphology following the WHO and Kruger's strict criteria. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999; 78: 526-9.
30. Nakagawa S, Nakamura N, Fujioka M, et al. Spermatogenic cell apoptosis induced by mitomycin C in the mouse testis. *Toxicol Appl Pharmacol* 1997; 147: 204-13.
31. De Kretser DM, Holstein AF. Testicular biopsy and abnormal germ cells. In: Hafez ESE, editor The human semen and fertility regulation in men. 1st ed. Missouri: Mosby and Co; 1976: p. 332-43.
32. Mortimer D, editor. Practical laboratory andrology. Oxford: Oxford University Press; 1994: p. 103-107.
33. Abbitt B, Berndtson WE, Seidel GE Jr. Effect of dihydrostreptomycin or oxytetracycline on reproductive capacity of bulls. *Am J Vet Res* 1984; 45: 2243-6.
34. Barth AD, Wood MR. The effect of streptomycin, oxytetracycline, tilmicisin and phenylbutazone on spermatogenesis in bulls. *Can Vet J* 1998; 39: 103-6.
35. Hargreaves CA, Rogers S, Hills F, et al. Effects of co-trimoxazole, erythromycin, amoxycillin, tetracycline and chloroquine on sperm function in vitro. *J Hum Reprod* 1998;

- 13: 1878-86.
- 36.Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis. *J Eur Urol* 1993; 23: 136-42.
- 37.Carryn S, Van Bambeke F, Mingeot-Leclercq MP, et al. Comparative intracellular (THP-1 macrophage) and extracellular activities of beta-lactams, azithromycin, gentamicin, and fluoroquinolones against *Listeria monocytogenes* at clinically relevant concentrations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2002; 46: 2095-103.
- 39.Ghosh S, Dasgupta S. Gentamicin induced inhibition of steroidogenic enzymes in rat testis. *Indian J Physiol Pharmacol* 1999; 43: 247-50.
- 39.Abd-Allah AR, Aly HA, Moustafa AM, et al. Adverse testicular effects of some quinolone members in rats. *J Pharmacol Res* 2000; 41: 209-11.
- 40.Jun YT, Kim HJ, Song MJ, et al. In Vitro Effects of Ciprofloxacin and Roxithromycin on Apoptosis of Jurkat T Lymphocytes. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 1161-4.
- 41.Tamer M, Said Uwe Paasch, Hans-Juergen Glander, et al. Role of caspases in male infertility. *J Human Reproduction Update* 2004; 10: 39-51.
- 42.Khaki A, Heidari M, Ghafari Novin M, et al. Evaluation of Ciprofloxacin Cytotoxic Effect in Rat Testis. *J Med Sci Hamadan Univ* 2006; 1: 56-61.

Original Article

Effect of ciprofloxacin in rat spermatogenesis

A. Khaki ^{1*}, I. Sohrabi Haghdoust ¹, M. Ghaffari Novin ²,
Y. Azarmi ³, M. Heidari ²

¹Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine Sciences, Tehran Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, IRAN

²Department of Pathology, Ibne Sina Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, IRAN

³Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Tabriz University of Medical sciences, Tabriz, IRAN

(Received 6 Apr, 2005 Accepted 24 May, 2005)

Abstract

Background: Ciprofloxacin is a synthetic antibacterial agent belonging to the family offluoroquinolones with a very broad spectrum against of microbial pathogens, especially Gram-negative infectious diseases, that has been approved in more world-wide countries. The aim of this study was planned to see effects of ciprofloxacin after inducement, in rat Spermatogenesis.

Material and Methods: The twenty male wistar rat were selected and randomly divided into two groups; control (n=10) and test (n=10). The test group was received 12.5mg/kg (PO) ciprofloxacin daily for sixty day; however the control group just received plate. In sixtieth day the testis tissue of Rat in both groups were remove and prepared for histomorphometric study and 5cc blood samples were taken for Testosterone analysis.

Results: Light microscopic observation, Score count study in seminiferous tubules confirmed most of tubules were in Score 2, Score 4-5, Score 6-9, and these scores were significantly in $P < (0.05)$, and this results confirmed tubular, Sertoli cells syndrome, hypospermatogenesis in experimental group, in other hand most seminiferous tubules in control group was significantly in Score 10 $P < (0.05)$, and this data confirmed intact tubules. There was a marked decrease in serum testosterone hormone, in experimental group as compared with control group, the statically analysis was fishers method ($P < 0.05$).

Conclusion: Since in our study ciprofloxacin had decreasing side effect on Spermatogenesis development in rat, it was suggested that using ciprofloxacin maybe cause harmful effects on seminiferous tubular.

Keywords: ciprofloxacin, seminiferous tubules development, testosterone, spermatogenesis

*Address for correspondence: Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine Sciences, Tehran Sciences and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, IRAN; E-mail: arashkhaki@yahoo.com